

令和 6 年 5 月 1 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18282

研究課題名（和文）頭頸部食道重複癌における共通遺伝子変異の網羅的解析

研究課題名（英文）Comprehensive analysis of common gene mutations in head and neck esophageal duplication carcinoma

研究代表者

四宮 弘隆（Shinomiya, Hiroataka）

神戸大学・医学部附属病院国際がん医療・研究センター・特命准教授

研究者番号：00725385

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：下咽頭癌、食道癌は飲酒喫煙が原因となる癌で、互いに重複癌をきたしやすい。日本人はアセトアルデヒドを分解する酵素ALDHが弱い人が多く、特にこれらの疾患の罹患率が高い。そのため、両癌腫で遺伝子変異においても共通性が見いだせるのではないかと推測した。結果、両癌腫とも飲酒や喫煙で発生しやすい遺伝子変異が複数認められたが、同一人物の中で咽頭癌と食道がんに変異の共通性は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、咽頭癌、食道癌ともに飲酒や喫煙で発生しやすい遺伝子変異がみられることが改めて示された。ただ変異遺伝子の共通性は乏しく、同一患者の重複癌であってもそれらは別遺伝子の変異による孤発であり、予防、治療においては個別に対処する必要があることが示された。改めて飲酒、喫煙による疾患の予防が重要となることが示されたことは本研究における意義であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Hypopharyngeal and esophageal cancers are caused by alcohol consumption and smoking, and are prone to overlap with each other. Many Japanese people are weak in ALDH, an enzyme that breaks down acetaldehyde, and have a particularly high incidence of these diseases. Therefore, we hypothesized that both carcinomas might share a common genetic mutation. As a result, several gene mutations that are likely to be caused by alcohol consumption and smoking were found in both carcinomas, but no commonality of mutations was found between pharyngeal cancer and esophageal cancer in the same person.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：咽頭癌 食道癌 遺伝子変異 飲酒 喫煙

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌や食道癌は飲酒や喫煙がその成因に大きくかかわることが分かっている。アルコールに対する分解酵素が弱いタイプ (ALDH2 ヘテロタイプ) が遺伝的に多いアジア系人種では、飲酒が特に発がんの要因となっており、高齢化社会を迎えた我が国では、頭頸部や食道の重複癌を早期発見し、年齢や併存症、全身状態、重複癌発症のリスク等を考慮し、高頻度に発症する重複癌に対する必要最小限の侵襲な治療戦略の開発が求められる。

飲酒という同一の因子で発症する頭頸部癌と食道癌では、共通の変異を起こして発癌に至っていることが推測されるが、これまで重複癌について共通の変異を特定した先行研究は見られない。そこで、本研究は、重複癌の早期発見、リスク分類に応じた最適な治療戦略、共通変異部位をターゲットとした新たな遺伝子治療の開発を目指して計画した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は頭頸部癌と食道扁平上皮癌の重複癌症例において、両方の癌細胞に共通の遺伝子変異を同定することである。それにより重複癌に同定されやすい変異が分かれば、重複癌をきたすリスク分類を行うことで、異時性後発の重複癌のリスクを分類することが可能となる。重複癌高リスクと判断される症例では、なるべく放射線治療を温存し、手術治療を優先するといった治療アプローチにつながる可能性がある。また重複癌の高リスク症例では、定期的な上部消化管内視鏡検査をより徹底することで、早期発見と早期低侵襲治療を可能とし、結果的に頭頸部癌、食道癌の予後改善に寄与するものと考えられる。

こういった頭頸部と食道の重複癌に着目し、変異の共通点を探る研究はいままでに報告がなく、極めて独自性が高く、特に重複癌の多いこの領域には適したアプローチである。

### 3. 研究の方法

下咽頭癌、食道癌の重複癌に対して神戸大学、兵庫県立がんセンターで治療を行った患者 12 例 24 検体を用いて研究を行った。

ホルマリン固定パラフィン包埋病理組織標本から DNA の抽出を行う。

遺伝子パネル OncoPrint road assay を用いて遺伝子変異の網羅的な検索を行った。重複癌症例において、重複した双方の癌細胞における遺伝子変異部位の重複性を検討する。また ALDH2 の遺伝子多型も同時に検索し遺伝子変異と ALDH2 との関連についても調べる

### 4. 研究成果

遺伝子変異の検索で最も多く遭遇した Somatic mutation は TP53 のミスセンスであった (39.5% 17/42)。

Clonality については、同一の clonality が検出されるものはなく、重複癌患者の下咽頭-食道腫瘍間に目立った共通性の体細胞変異はなかった。

Mutational Signature については、Signal で解析した結果を Table 3 に述べる。24 検体中 21 例(88%)に SBS 5 の変異を 6 例(25%)に SBS 18 の変異を認めた。そして 20 例でそれぞれの total mutations の占める割合において SBS 5 が最も高かった。

#### ALDH2 遺伝子多型

ALDH2 の変異について Sanger 法で検索した。ワイルドタイプは 3/12 25% ヘテロは 6/12 50% ホモは 3/12 25%であった。

#### Public Database

2022 年 12 月 1 日現在 C-CAT データベースには固形がんのケースが 60257 件含まれていた。そのうち下咽頭扁平上皮癌患者は 126 例(0.2%)、食道扁平上皮癌患者は 920 例(1.5%)登録されていた。それぞれのデータは Figure 2 に示す。TP53 は癌腫を問わず、最も変異が多かった。全がん種の検討では約 60%にとどまったが、下咽頭扁平上皮癌と食道扁平上皮癌では共に 90%以上の頻度であった。驚くべきことに下咽頭扁平上皮癌と食道扁平上皮癌を比較すると、80%が類似した somatic mutation をもち、またその頻度も非常に似通っていた。

2022 年 12 月 1 日現在 TCGA データベースでは "Disease type IS squamous cell neoplasms AND Primary Site IS hypopharynx AND Program Name IS TCGA " による検索で TCGA-HNC が見つかる。このプロジェクト全体では 528 cases の登録があるがそのうち下咽頭扁平上皮癌は 9cases のみと非常に少なかった。同様の検索で食道扁平上皮癌は 95 cases の登録があった(Table 5)。TCGA データベースの下咽頭扁平上皮癌と食道扁平上皮癌を比較すると TP53 の検出以外は全く異なる結果であった。また日本のデータベースと比較すると TP53 の検出頻度もかなり少ない結果であった。

本研究は、日本における下咽頭扁平上皮癌と食道扁平上皮癌の重複癌患者の遺伝子変異の類似性を、院内コホートのデータと日本とアメリカの大規模ながんデータベースを使用して行った。この研究の結果、重複癌患者の下咽頭癌と食道癌の腫瘍間で遺伝子変異の類似性は乏しいことが示された。しかしながら、下咽頭扁平上皮癌と食道扁平上皮癌重複癌のそれぞれに焦点を当てて遺伝子変異を調査した場合、日本のコホートから解析された遺伝子変異の場合は非常に近似していることがわかった。アメリカのコホートからは類似性は認めず、また今までに報告されているとおり、下咽頭扁平上皮癌自体が非常に稀である 17) ことが改めて認識された。この調査結果を理解するためには日本の下咽頭扁平上皮癌や食道扁平上皮癌の原因として飲酒が発がん原因であるという共通の背景 8)を理解する必要がある。飲酒が下咽頭癌と食道癌の両方に関与していることは知られている。これが原因で重複癌を発がんした後、それぞれのがんが独自に進化していく可能性が考えられる。飲酒による影響ががんの発生に寄与する際、共通の遺伝子変異が初期段階で見られる可能性がある。しかし、がんが進行するにつれて、それぞれの組織や環境への適応により、個別の遺伝子変異が蓄積していくと考えられる。これにより、同じ原因から発生した癌でも独自の遺伝子プロファイルを有する腫瘍が形成されることが示唆される。

アメリカのコホートでは日本のコホートで見られた特徴がなかったことは、人種間の飲酒への影響の差が考えられる。ALDH2 は、アルコール飲用の代謝において重要な役割を果たす酵素でアセトアルデヒドから酢酸への変換を担当している。日本とアメリカのコホート間で ALDH2 の遺伝的な差異が見られ 18)、これがアルコール代謝の効率に影響を与えている。

ALDH2 のワイルドタイプは一般的な日本人よりも少なく飲酒が原因で重複がんをきたしていると考えられた。

人種別での ALDH2 ヘテロ接合体所持率は白人・黒人ではほぼ 0%、黄色人種では 40%程度とされる。また日本人健常者コホート研究では野生型 50%、ヘテロ 41%、ホモ 9%とされる (19)。またこの研究ではホモ型の 97%は飲酒嗜好なしとの結果であった。ヘテロ型のアセトアルデヒド代謝活性はワイルドタイプの 1/16、またホモ型はほぼ 0 まで低下とされている。本検討で登録された重複癌患者では日本人健常者コホートと比較して野生型が少なく、ヘテロ、ホモが多かった。このことは重複がんの原因に飲酒環境に加えてアセトアルデヒドの代謝活性低下が大きく寄与していることを意味する。

一般的に飲酒様式を取らないとされているホモタイプが 25%存在したことは非常に驚きであった。

下咽頭癌と食道癌の重複癌をきたしやすいことは”Field Cancerization”と呼ばれる概念が 1953 年から提唱されており、アセトアルデヒドの反復性暴露により引き起こされる発癌機構とされている。アセトアルデヒドの DNA 損傷は結果として TP53 変異をきたす (20) とされており Waridel は p53 mutation は重複癌症例に正常粘膜で認めやすく、Field Cancerization の原因と考えている (21)。日本人コホートは下咽頭癌、食道癌共に 90%以上の p53 変異があり、重複癌を来しやすいコホートであったと考えられ、逆にアメリカのコホートは p53 の頻度が相対的に少なく、重複癌をきたす症例が少ないと考えられた。

#### 変異シグネチャー

変異シグネチャーは、がん細胞のゲノム中に見られる特定の変異のパターンや署名のことを指す。COSMIC ( Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer ) は、がんに関連する変異データベースで、さまざまながんで見られる変異シグネチャーを収集・分類している。2023 年時点で 99 種類の要素に分類しており、シグネチャーのパターンから内的外的環境要因が推定できる (22-23)。

本検討では SBS5 が最も検出され、本症例群に特徴的であった。

SBS5 は COSMIC ではまだ 2023 年時点で”Unknown etiology”とされているが、膀胱がんサンプルにおいて ERCC2 変異およびタバコの喫煙によって増加し、多くのがん種で同様に観察される。ほとんどのがんおよび正常細胞における突然変異の数が個人の年齢と相関していることから”Clock like signature”と評されるが、同様の特徴を持つ SBS1 とは相関していない。下咽頭癌と食道癌の重複癌はアジア人の ALDH2 変異の影響できたす癌であると解析されている報告が多いが日本人の多目的コホート研究を行なった Lu らは男性で喫煙は咽頭癌のリスクを 2.4 倍、飲酒で 1.8 倍としており、喫煙の影響は非常に大きいことを述べている (24)。SBS5 が膀胱癌で報告されている通り喫煙の影響を強く受けるのであれば、本症例群の多くが喫煙の影響を受けたと考えても矛盾しない。ただし SBS5 においてはホルマリン固定や SBS16 ( SBS5 と一部の突然変異パターンが似ている ) とのコンタミネーションの可能性が報告 (25) されており、その影響は否定できない。

SBS18 は 2 番目に検出された signature であった。SBS18 の etiology は damage by reactive oxygen species (ROS) とされている (26)。ROS は活性酸素種 ( Reactive Oxygen Species; ROS ) は、酸素分子 ( O<sub>2</sub> ) に由来する反応性に富む一群の分子群の総称である。ROS は、通常の好気呼吸や大気汚染物質、タバコの煙などの環境因子に曝露されることによって、生体内で産生される。本検討の症例からはタバコの影響が最も考えやすいかもしれ

ない。SBS 18 を持つ 6 例のうち 5 例が喫煙者であった。先に述べたように日本人が喫煙の影響を受けて下咽頭癌などの頭頸部癌をきたしやすい理由の一つとして、ROS が関連しているかもしれない。Ma らは日本人の胃癌において喫煙者と飲酒者では ROS 高値により胃癌のリスクが高まることを報告しており<sup>27)</sup>、下咽頭癌や胃癌でも同様のことが言えるかもしれない。

本研究により重複癌に共通の変異が同定できれば、共通変異部位をターゲットとした治療により、重複癌も含めたより効率のよい治療法の開発につながる可能性が期待されたが、それぞれの腫瘍間で独自の進化をしていくことが示唆されたため効率の良い治療法にはつながらなかった。しかし起源は ALDH2 の遺伝的な差異であることが示されたため、これらの遺伝子変異を持つ患者群に適切に飲酒量の指導ができれば、両癌の予防につながると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------